

B₁

Patent publication number: JP S43-25506 (Published on 1968-11-004)

Preparation methods of low Fatty acid esters of riboflavin

Patent application number: JP S40-56913

Patent application date: 1965-09-16

Inventor and address: Yamabe, Shigeru, 1-36, Sone-cho East, Toyonaka, Japan
Terayama, Hiroshi, 155, Tamagawa-cho Seta, Setagaya-ku, Tokyo, Japan

Applicant and address: Sumitomo Chemical Co., Ltd., 5-15, Kitahama, Higashi-ku, Osaka, Japan

Administrator: Hasegawa Norishige

Patent Attorney: Urasawa Yukio

Brief illustration by figures

Figure 1(a), IR spectrum of riboflavin. Figure 1(b), IR spectrum of riboflavin trilaurate in example 1. Figure 2, IR spectrum of riboflavin triisovalerate in example 2.

Detailed description of the invention

The present invention is about the esterification reaction to induce 1-3 fatty acids to riboflavin of its ribose alcohol moiety, Generating the high fat-soluble vitamin of the riboflavin. Such esters can be dissolved by butter, olive oil and other fats, or wrapped in rice and other methods for making the fortified foods, also can be added to the beauty cream for high skin absorption characteristics. For these different purposes, the esterification reaction fatty acids have more than 3 carbon atoms, that also comprise the branched-chain fatty acids, such as butyricum, isovaleric acid, lauric acid, stearic acid, oleic acid, palmitic acid, et al.

The process of preparation is that, the corresponding fatty acid halides (especially chloride) combined with riboflavin at less than the ratio of 3:1; alkaline solution as the reaction solvent; then separate and refine the generated esters by the column chromatography or centrifugal separation method. Compared with previous methods, the use of alkaline solution as reaction solvent has the advantages that, by the proper selection of the reaction conditions, high yield (80-90%) to obtain any kind of the monoester, diester, triester. Compared with the tetraesters, these low fatty esters show excellent lipophilicity, and riboflavin content is high in these esters, and these



esters are very easy to hydrolysis to riboflavin catalyzed by lipase, these advantages have a good practicability.

Specifically speaking, reaction using riboflavin monolaurate、dilaurate、trilaurate as substrate in phosphate buffer solution (pH7.0), hydrolyzed by pancreas lipase under 37°C for 90 mins yields the following result. The result demonstrated its excellent utility.

Substrates	Hydrolysis rates(%)	Nutritional effect of vitamin B2(The growth and development of rats)
Riboflavin monolaurate	45	+++
Riboflavin dilaurate	30	+++
Riboflavin trilaurate	27	+++
The control group		+++

(The rats were fed fully for two weeks.)

In addition, the fact was confirmed further that the product of our invention is its corresponding lower fatty acid ester by elemental analysis, visible absorption spectroscopy, infrared absorption spectroscopy etc.

The following examples illustrate the invention in detail.

Example 1

Lauric chloride (21.8 g, 0.1mol) and 15 ml aqueous solutions containing 7.3 g(0.11mol) 85% KOH(or NaOH) were added dropwise into an ice-cooled and stirring suspension of 3.76 g (0.01mol) riboflavine in H₂O for 30-60 min. The mixture stirred an additional 30 min, then centrifuged or filtered to get yellowish Solid. The crude was extracted by hydrophobic solvents such as Chloroform or toluene. Likewise, mother liquor was extracted directly, not centrifuged or filtered. After adding sodium bicarbonate and water in this organic solvent, sloshed in the separating funnel, fully cleaned. The organic solvent was distildded off under vacuum. A oily or solid form of riboflavin laurate is obtained. The total rate of recovery is up to 90%.

The product was dissolved by petroleum ether or gasoline and purified by silica gel column chromatography, eluted by ethyl ether : petroleum ether(1:1) or more large amount of ethyl ether. A orange yellow crystal was obtained after remove the solvents by distilling in low pressure.

The crystal is very stable at room temperature, which is undissolvable in water, but can be readily dissolved in various organic solvents and oils, The solution shows yellow green fluorescence. Its melting point and elemental analysis results are shown in Table 1. From the elemental analysis data shows the crystal is a riboflavin molecule contained three esters of the three lauric acid molecules.

Table 1

compounds	melting point	elemental analysis data (%)			
			C	H	N
Riboflavin	288.5~292.5℃	theoretical value	54.26	5.32	14.89
		measured value	54.58	5.21	14.75
Riboflavin trilaurate	127.5~144.5℃	theoretical value	68.98	9.33	6.07
		measured value	67.33	9.18	6.03

The visible absorption spectrum of the crystal in olive is similar to the Riboflavin's aqueous solution, its maximum wavelength of absorption wave is 440mμ, which is slightly shorter than the riboflavin's(445mμ). In addition, the results of IR were shown in Figure 1 (b). Compared with the IR(KBr disk) of Riboflavin which was shown in Figure 1 (a), all the finger-print region of the absorption band are very similar, thus show that isoalloxazine ring was saved by the ester bond. And only the 3.5μ absorption band formed by Paraffin chain in Figure 1 (b) can be seen, shows that fatty acids was induced in the crystal.

Example 2

3.8g of riboflavin was suspended in 50ml H₂O , and slowly added 12.1g isovalericacid chloride and KOH6.1 g / 15ml H₂O dropwise under ice-cooled environment. After the reaction complete, the reaction mixture was extracted with toluene, the toluene layer was fully washed by water, then remove the toluene by low

pressure distillation under 40°C. The oily residue was dissolved in petroleum benzene, then implement Silica gel column chromatography. The next step was the same with example 1, remove the solvent by Evaporation to get 1.2 g orange oily riboflavin ester.

The elemental analysis values of Table 2 show that the product is the ester of riboflavin molecule combined with three-isovalerate.

Table 2

Compound	Elemental analysis values (%)			
		C	H	N
riboflavin triisovalerate	Theoretical value	61.15	7.01	8.92
	Measured value	59.81	7.15	7.91

In addition, the IR spectrum (solvent, paraffin oil) of the product is shown in Figure 2.

Claim:

1. The methods of preparing low fatty acid esters of riboflavin: Using fatty acid halides react with riboflavin in alkaline solution, esterified riboflavin ribose moiety to monoester, diester, triester, said fatty acid halides have more than three carbon atoms with straight or branched chain.

Figure 1 (a) riboflavin

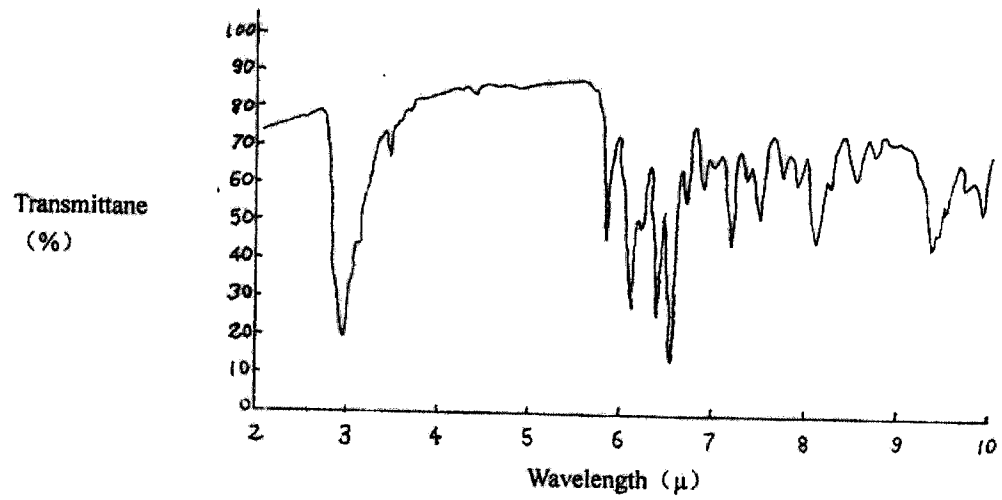


Figure 1 (b) Riboflavin trilaurate

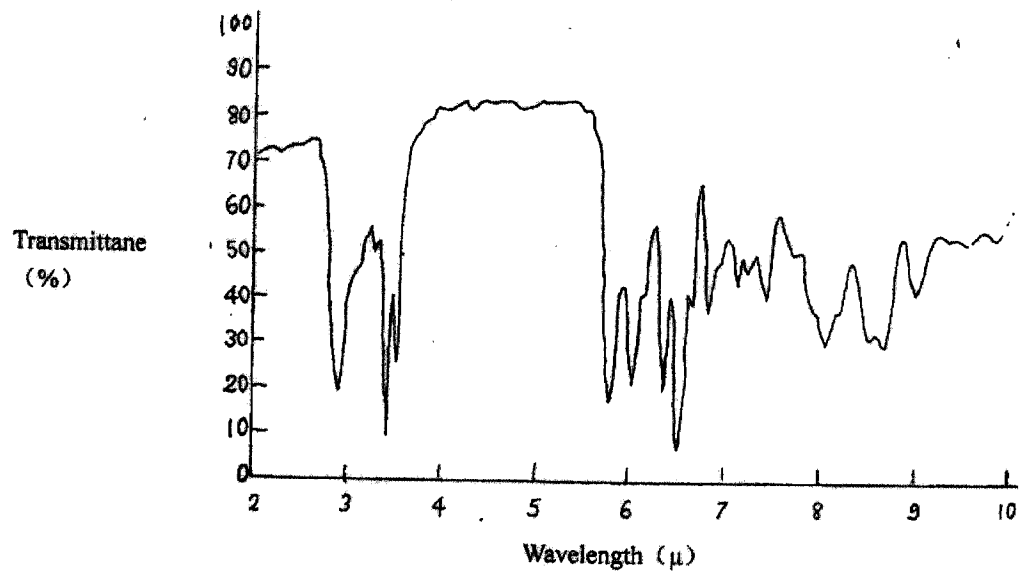
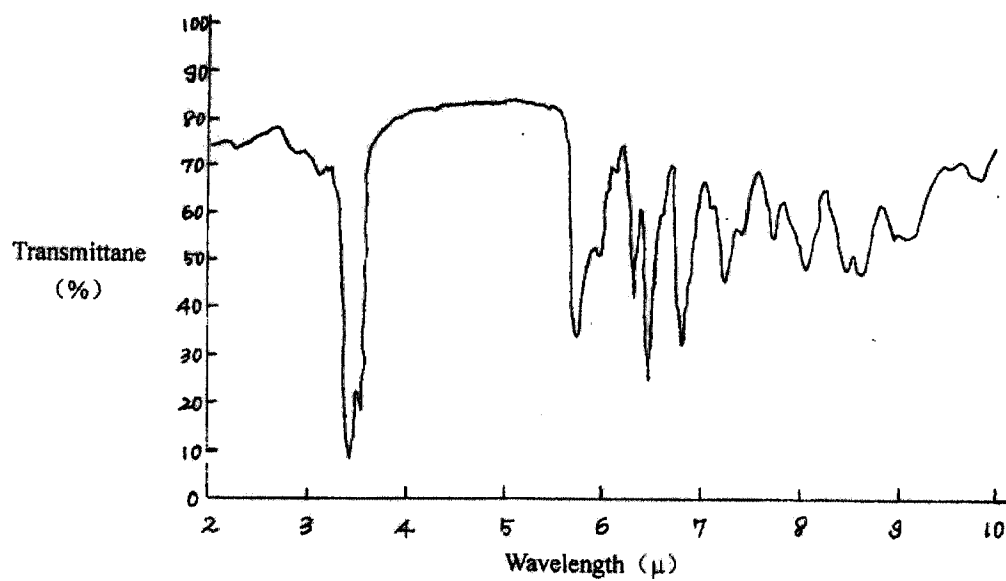
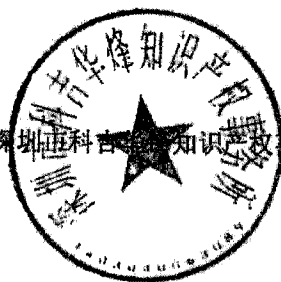


Figure 2 riboflavin triisovalerate



Translated by 深圳市龙岗区知识产权事务所



リボフラビン脂肪酸オリゴエステルの製法

特 願 昭 40-56913
出 願 日 昭 40.9.16
発 明 者 山辺茂
豊中市曾根東町1の36
同 寺山宏
東京都世田谷区玉川瀬田町156
出 願 人 住友化学工業株式会社
大阪市東区北浜5の15
代 表 者 長谷川周重
代 理 人 弁理士 沢浦雪男

図面の簡単な説明

第1図はリボフラビンの紫外線吸収スペクトルを表わし、第1図は実施例1のリボフラビンラウリン酸トリエステルの紫外線吸収スペクトルを表わす。第2図は実施例2のリボフラビンイソ吉草酸トリエステルの紫外線吸収スペクトルを表わしたものである。

発明の詳細な説明

本発明は水溶性のビタミンB₂、すなわちリボフラビンのリビチル基に1乃至3個の脂肪酸をエステル結合により導入し、それを脂溶性の高いビタミンに変化させる製法に関する。このエステルは、バター、オリーブ油等の油脂に溶かしたり、あるいは白米にコーティングしたりして強化食品にでき、また化粧用クリームに添加して皮膚からの浸透性を高める等の特色を有する。かかる目的をもつてエステル結合される脂肪酸は炭素原子数3以上の脂肪酸で、鎖状を有する脂肪酸も含まれ、例えば酪酸、イソ吉草酸、ラウリン酸、ステアリン酸、オレイン酸、パルミチン酸等があげられる。

本製法は相当する脂肪酸のハロゲン化物、特にクロライドをリボフラビン1モルに対して3モル以下の割合で結合するように使用すること、アルカリ水溶液を反応溶媒とすること、および生成したエステルをカラムクロマトグラフィーまたは遠心分離法によつて分離精製することとを特徴とする。アルカリ性水溶液を使用する有利な点は従来法に比し反応条件を適当に選定することによつて、モノエステル・ジエステル・トリエステルの中の任

意の分画が高い収率(80乃至90%)でえられるにある。これらのオリゴエステルはテトラエステルに比して、充分に親脂性であると共にリボフラビン含量の高いこと、リパーゼで加水分解され活性リボフラビンを生じ易いこと等から実用上特

にすぐれている。すなわち具体的には、リボフラビンラウリン酸モノエステル、ジエステル、トリエステルを基質とし、酵素として、パンクレアスリパーゼを用い、pH 7.0のリン酸塩緩衝液を用いて、37℃で90分間加水分解反応を行つたところ下表のような結果が得られ、そのすぐれた実用性が立証された。

基 質	加水分解速度 (%)	ビタミンB ₂ 養 養効果(ラット 発育)
リボフラビンラウリン酸モノエステル	45	+++
リボフラビンラウリン酸ジエステル	90	+++
リボフラビンラウリン酸トリエステル	27	+++
		コントロール ++++

(ラットを2週間完全飼育)

なお、元素分析、可視部吸収スペクトル、紫外線吸収スペクトル等を測定し、本発明生成物が相当する脂肪酸のオリゴエステル中の一分画であることを確認した。

次に実施例を示し本発明をさらに詳細に説明する。

実施例 1

リボフラビンの粉末3.76g(0.01モル)を適当量の水に懸濁させ、氷冷下でよく撹拌しつつ、これに8.5% KOH(またはNaOH) 7.3g(0.11モル)/15ml水およびラウリン酸クロライド21.8g(0.1モル)を等量ずつつ

より滴下する。

30分乃至60分かけて全部を滴下し、さらに30分間攪拌をつづける。反応終了後、いつたん遠心分離または遠心分離して黄色固形物を集め、ついでクロロホルム、トルエン等の揮発性溶媒で抽出する。場合によっては、いつたん固形物を分離しないで、直ちに溶媒で抽出してもよい。

有機溶媒を重炭酸ナトリウム水、ついで水で分液漏斗中で振り、よく洗ってから溶媒を減圧下で留去すれば、油状または固形のリボフラビンラウリン酸エステルが得られる。収量は90%である。

これをさらに精製するには、石油エーテルまたは石油ベンジンに溶かし、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行い、石油エーテル+エーテル(1:1の分量比)またはエーテルの分量を大きくした溶媒で溶出する。溶媒を減圧下で留去すれば微黄色結晶を得る。

本品は室温で極めて安定であり、水に不溶、各種の有機溶媒および油脂によく溶けて黄緑色のケイ光を示す。本品の融点および元素分析値は第1表の通りである。元素分析値から本品はリボフラビン1分子に対してラウリン酸3分子を含むトリ

エステルであることがわかる。

第 1 表

化 合 物	融 点	元 素 分 析 値 (%)			
			C	H	N
リボフラビン	288.5~ 292.5℃	理論値	54.26	5.32	14.89
		実測値	54.58	5.21	14.76
リボフラビンラウリン酸 トリエステル	127.5~ 144.5℃	理論値	68.98	9.33	6.07
		実測値	67.33	9.18	6.03

本品のオリーブ油中における可視部吸収スペクトルはリボフラビンの水溶液のものに類似するが、その吸収極大は440mμにあつて、リボフラビンの値445mμより少しく短波長に位する。また本品の赤外線吸収スペクトル(KBr錠剤法)は第1図(b)の通りである。第1図(a)のリボフラビンのスペクトルと比較して、いわゆる指紋領域の各吸収帯が極めて相似していることから、エステル結合によつてイソプロピルサテン後の保存されていることがわかる。また(b)に認められる3.5μの吸収帯はパラフィン鎖によるものであり、脂肪酸が導入されていることを明示している。

実施例 2

① リボフラビン2.8gを50mlの水に懸濁させ、氷冷下で攪拌しながらイソ吉草酸クロライド12.1gとKOH 6.1g/15ml水を少量ずつ滴下する。反応終了後、トルエンで抽出し、このトルエン層を水でよく洗つてから40℃以下でトルエンを減圧留去する。残留物の油状体を石油ベンジンに溶かし、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行う。以下実施例1と同じようにして溶出液から溶媒を蒸発させると、赤褐色の油状リボフラビンエステル1.2gを得る。

第2表に示す本品の元素分析値より、リボフラビン1分子に対してイソ吉草酸3分子が結合した

トリエステルであることがわかる。

第 2 表

化 合 物	元 素 分 析 値 (%)			
		C	H	N
リボフラビンイソ吉草 酸トリエステル	理論値	61.15	7.01	8.92
	実測値	59.81	7.15	7.91

(3)

特公 昭43-25508

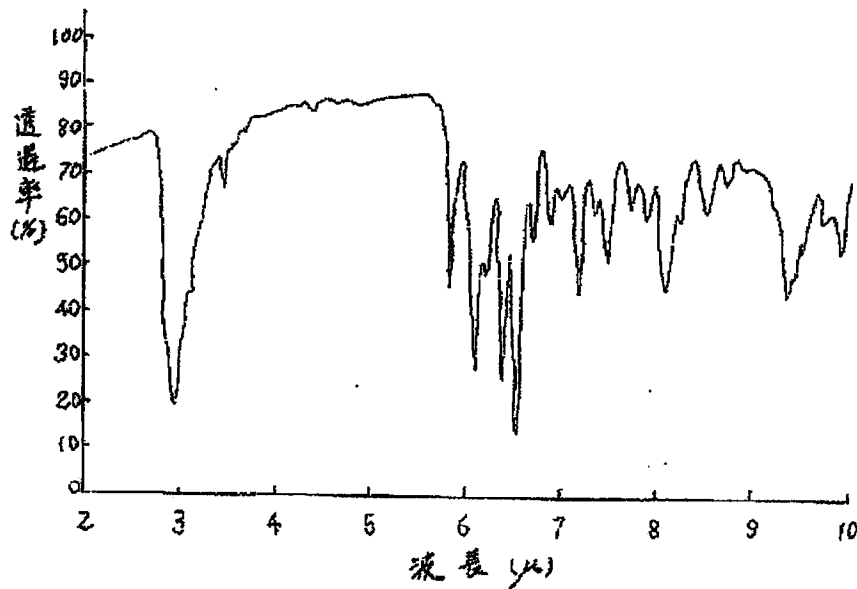
なお本品の赤外線吸収スペクトル(有機パラフィン油)を示せば第2図の通りである。

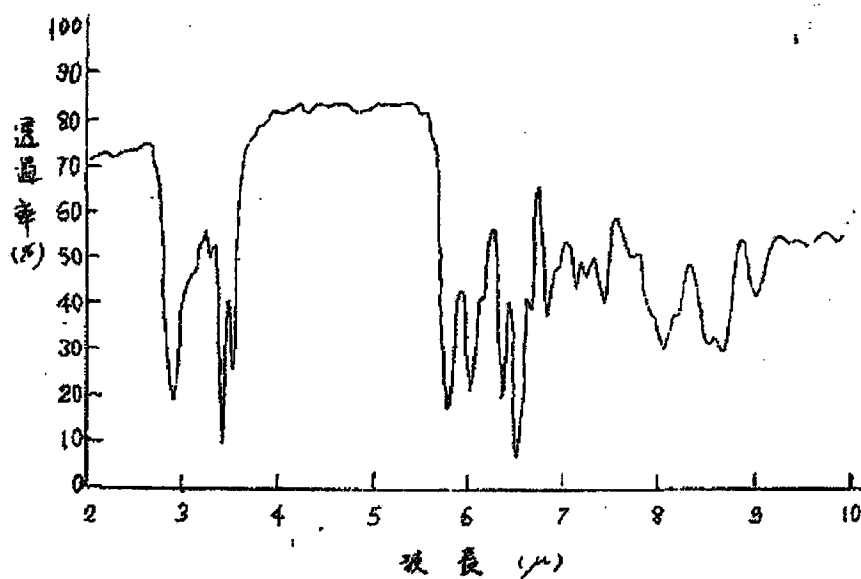
特許請求の範囲

1 直鎖状または側鎖を有する炭素原子数3以上の脂肪酸のハロゲン化物を、リボフラビンとアル

カリ性水溶液で反応させ、リボフラビンのリビチル基をモノエステル、ジエステルまたはトリエステル化することを特徴とするリボフラビン脂肪酸オリゴエステルの製造。

第2図 (a) リボフラビン



第1図 (b) リボフラビンラウリン酸トリエステル第2図 リボフラビンイソ吉草酸トリエステル